

**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (FE) BERBAGAI
DOSIS TERHADAP KONDISI MAKROSKOPIS LAMBUNG TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Rachma Ayu Difa Pratiwi

155070607111034

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (FE) BERBAGAI DOSIS
TERHADAP KONDISI MAKROSKOPIS LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**

Oleh:

Rachma Ayu Difa Pratiwi

NIM 155070601111034

Telah diuji pada

Hari : Jum'at

Tanggal : 17 Mei 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji – I



Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc
NIP. 195502011985032001

Pembimbing – I/Penguji – II,



Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes
NIP. 195505121987012001

Pembimbing – II/Penguji – III,



dr. Anin Indriani, SpOG
NIK. 2016098007042001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Kebidanan,



Linda Ratna Wati, S.ST., M.Kes
NIP. 198409132014042001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rachma Ayu Difa Pratiwi

NIM : 155070601111034

Program Studi : Program Studi Sarjana Kebidanan

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Mei 2019

Yang membuat pernyataan,

Rachma Ayu Difa Pratiwi

NIM. 155070601111034

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Berbagai Dosis Terhadap Kondisi Lambung Tikus Putih *Rattus Norvegicus* Strain Wistar Bunting”.

Ketertarikan penulis akan topic ini didasari oleh adanya peraturan pemerintah terkait pemberian suplementasi zat besi pada wanita subur maupun ibu hamil khususnya. Anjuran ini dikeluarkan untuk mengurangi tingkat kejadian anemia pada ibu hamil. Namun ternyata pada kenyataannya hal tersebut justru menimbulkan efek samping pada ibu hamil seperti mual, muntah, nyeri ulu hati bahkan diare. Penelitian ini bertujuan untuk melihat apa yang terjadi pada kondisi lambung ibu hamil yang diberikan suplementasi zat besi selama masa kehamilannya. Apakah terdapat hubungan antara pemberian suplementasi zat besi dengan kondisi abnormal pada lambung yang dapat memicu terjadinya efek samping seperti yang dialami ibu hamil.

Selesainya tugas akhir ini tak lepas dari bantuan, dukungan maupun kesempatan yang diberikan oleh banyak pihak, oleh karenanya penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, Msi.Med, Sp.A(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Ibu Linda Ratnawati, SST., M.Kes., sebagai Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS S1 Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

3. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc sebagai penguji 1 ujian seminar hasil yang telah meluangkan waktunya, memberikan saran, mengarahkan serta memberikan kritik yang membangun sehingga penulis dapat dengan baik menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes., sebagai pembimbing pertama yang senantiasa membimbing, mengarahkan, memberikan saran, kesabaran serta waktunya kepada penulis sehingga penulis dapat menulis dengan baik, serta senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. dr. Anin Indriani, SpOG., sebagai pembimbing kedua yang senantiasa membimbing, mengarahkan, dan memberikan saran, kesabaran serta waktunya kepada penulis sehingga penulis dapat menulis dengan baik, serta senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Proposal Tugas Akhir dengan lancar.
7. Kedua orang tua penulis, Ibu Diyah Ratna Ayu Tisna Bulan dan Bapak Mustofa Isa Bahari, serta adik penulis, Fahmi Maulana Sakti, yang tak henti-hentinya memberikan dukungan dan semangat selama menempuh kuliah dan mengerjakan Tugas Akhir.
8. Teman-temanku S1 Kebidanan 2015, rekan-rekan kelompok penelitianku (Safna, Alfin, Uli, Zalfa, Indah), teman-temanku (Gebe, Muti, Firda, Marya, Hasna, Icer, Puti, Nova, Eno, Nisa, Choir, Shella), dan Rifaldi Syafitra yang

selalu menemani perjalanan susah, senang, maupun sedih selama masa kuliah, serta selalu memberikan kritik, saran, dukungan, semangat, dan motivasi untuk bertahan serta dorongan agar segera menyelesaikan Tugas Akhir.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 17 Mei 2019

Penulis

ABSTRAK

Pratiwi, Rachma Ayu Difa, 2019. **PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (FE) BERBAGAI DOSIS TERHADAP KONDISI MAKROSKOPIS LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr.Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Anin Indriani, SpOG

Anemia menjadi hal yang sangat sering terjadi pada wanita, khususnya pada ibu hamil. Anemia dapat menyebabkan berbagai macam komplikasi terhadap kehamilan. Meninjau dari banyaknya jumlah wanita hamil yang mengalami anemia serta banyaknya komplikasi yang dapat terjadi, kementerian kesehatan Republik Indonesia mengeluarkan peraturan berupa anjuran untuk mengkonsumsi suplemen zat besi. Namun, pada pelaksanaannya suplementasi zat besi ini juga menimbulkan banyak keluhan diantaranya yaitu masalah pada saluran pencernaan, selain itu konsumsi zat besi dalam dosis yang tinggi juga dapat menimbulkan sifat basa pada lambung yang memicu peningkatan kolonisasi *Helicobacter pylori*, serta meningkatkan produksi dari Spesies Oksigen Reaktif yang menimbulkan radikal bebas berlebihan dalam tubuh. Adanya masalah-masalah yang telah disebutkan tersebut dapat menimbulkan ulkus peptikum khususnya pada bagian lambung. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap kondisi makroskopis lambung tikus putih. Metode penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test only controls group design*. Hewan coba yang digunakan sebagai sampel berjumlah 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pada analisis *One Way Anova* menunjukkan nilai p value: 0,000 yang berarti perbedaan jumlah ulkus peptikum lambung pada setiap kelompok bermakna. Dengan menggunakan Uji Korelasi *Pearson* diperoleh p value = 0,000 yang menunjukkan korelasi antara suplementasi zat besi dan skor ulkus peptikum lambung bermakna ($p < 0,05$). Kesimpulannya yaitu, pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap kondisi makroskopis lambung.

Kata kunci: Anemia, suplementasi besi (Fe), dosis tinggi, ulkus peptikum lambung

ABSTRACT

Pratiwi, Rachma Ayu Difa, 2019. **THE EFFECT OF VARIOUS DOSAGE IN IRON SUPPLEMENTATION (FE) AGAINST MACROSCOPIC CONDITION OF PREGNANT WHITE RAT's GASTRIC (*Rattus norvegicus*)**. Final Project, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Advisor: (1) Dr.dr.Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Anin Indriani, SpOG

Anemia is a very common thing for women, especially in pregnant women. Anemia can cause various complications for pregnancy. Judging from the large number of pregnant women who have anemia and the complications that occur, the Ministry of Health of the Republic Indonesia issued a regulation in the form of recommendations to consume iron supplements. However, the implementation of iron supplementation also raises many complaints such as digestive tract's problems, besides the consumption of iron in high doses can also cause alkaline conditions in the stomach which trigger an increase in *Helicobacter pylori* colonization, and increase production of Reactive Oxygen Species that cause excessive free radicals in the body. The existence of the aforementioned problems can cause peptic ulcers especially in the stomach. The purpose of this study was to determine the effect of high-dose iron (Fe) supplementation on the macroscopic condition of the stomach of white mice. The research method used was true experimental with a post test only control group design. The experimental animals that were used as samples were 24 animals which were divided into 4 groups. The results showed that the value of the One Way ANOVA analysis showed a p value: 0,000 which meant the difference in the number of gastric peptic ulcer in each group was significant. Using the Pearson Correlation Test, p value = 0,000 showed that the correlation between iron supplementation and gastric peptic ulcer score was significant ($p < 0.05$). The conclusion is that high doses of iron (Fe) supplementation affect the gastric macroscopic condition.

Keywords: Anemia, iron (Fe) supplementation, high doses, gastric peptic ulcer

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Zat Besi (FE)	5
2.1.1 Definisi dan Fungsi Zat Besi (FE)	5
2.1.2 Definisi Tablet Tambah Darah	6
2.1.3 Sumber Zat Besi.....	6
2.1.4 Metabolisme Besi	7
2.1.5 Absorpsi Zat Besi	8
2.1.6 Kebutuhan Zat Besi dan Suplementasi Zat Besi.....	10

2.1.7 Efek Samping Suplementasi Zat Besi	12
2.1.8 Stress Oksidatif Akibat Suplementasi Zat Besi Dosis Tinggi	12
2.1.9 Zat Besi Mendukung Pertumbuhan <i>Helicobacter Pylori</i>	13
2.2 Lambung	14
2.2.1 Definisi	14
2.2.2 Ulkus Lambung.....	14
2.3 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar	15
2.3.1 Klasifikasi	15
2.3.2 Tikus Wistar.....	16
2.3.3 Siklus Reproduksi.....	18
BAB 3	21
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Konsep	21
3.2 Hipotesis.....	23
BAB 4	24
METODE PENELITIAN.....	24
4.1 Rancangan Penelitian.....	24
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	24
4.2.1 Kriteria Inklusi.....	25
4.2.2 Kriteria Eksklusi	25
4.3 Variabel Penelitian.....	26
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	26
4.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	26
4.5.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba	26
4.5.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba	26
4.5.3 Alat Pemeliharaan Hewan Coba.....	26
4.5.4 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba.....	27
4.5.5 Alat Penunjang	27
4.5.6 Alat Pemberian Suplementasi Besi (Fe)	27
4.5.7 Alat Pembedahan dan Pengambilan Lambung Tikus.....	27
4.6 Definisi Operasional.....	27
4.7 Prosedur Penelitian	29
4.7.1 Aklimatisasi Hewan Coba.....	29

4.7.2	Prosedur Perawatan Tikus	29
4.7.3	Inseminasi Kelompok Hewan Coba	29
4.7.4	Pembagian Kelompok Hewan Coba	30
4.7.5	Penentuan Dosis Suplemen Besi (Fe)	30
4.7.6	Prosedur Pembuatan Sediaan paparan	32
4.7.7	Prosedur Pemaparan Asupan Suplemen Besi (Fe)	33
4.7.8	Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Lambung	33
4.7.9	Pemeriksaan Makroskopis	33
4.7.10	Pengukuran Skor Keparahan Ulkus	34
4.7.11	Prosedur Penguburan Hewan Coba	34
4.7.12	Alur Penelitian	35
4.8	Analisis Data	36
BAB 5	37
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		37
5.1	Hasil Penelitian	37
5.2	Analisis Hasil Penelitian	39
BAB 6	44
PEMBAHASAN		44
BAB 7	48
KESIMPULAN DAN SARAN		48
7.1	Kesimpulan	48
7.2	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN		53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses absorpsi besi di enterosit.....	9
Gambar 2.2 Penyerapan dan daur ulang besi di dalam tubuh.....	9
Gambar 2.3 Sel-sel epitel berinti pada fase proestrus.....	18
Gambar 2.4 Fase Estrus.....	19
Gambar 2.5 Fase Metestrus	19
Gambar 2.6 Fase Diestrus	20
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	21
Gambar 5.1 Gambaran Kondisi Makroskopik Lambung	38

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Angka Kecukupan Zat Besi	11
Tabel 2.2 Panduan Kasar untuk Dosis Beracun Unsur Besi yang Dikonsumsi...	12
Tabel 2.3 Data Fisiologis Tikus	17
Tabel 4.1 Tabel Konversi Dosis	31
Tabel 4.2 Skor Keparahan Ulkus	34
Tabel 5.1 Skoring Hasil Ulkus Lambung Secara Makroskopis	37
Tabel 5.2 Hasil Uji Homogeneity of Variance	39
Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas.....	39
Tabel 5.4 Uji ANOVA	40
Tabel 5.5 Analisa Post Hoc Tests	41
Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi Pearson.....	42
Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Form Etik.....	53
Lampiran 2 Hasil penelitian.....	54
Lampiran 3 Analisis Data	55
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian.....	57

DAFTAR SINGKATAN

BBLR	= Berat Bayi Lahir Rendah
HPP	= <i>Haemorrhagic post partum</i>
K1 – K4	= Kunjungan 1 – Kunjungan 4
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
DMT	= Divalent Metal Transporter
TfR	= Transferring Receptor
SDM	= Sel Darah Merah
AKG	= Angka Kecukupan Gizi
DNA	= Deoxyribonucleic Acid
FSH	= Follicle Stimulating
LH	= Luteinizing Hormone
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
CMC	= Carboxy Methyl Cellulose

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ibu hamil sangat rawan mengalami kekurangan gizi, hal ini dikarenakan gizi yang didistribusikan dalam tubuh bukan hanya untuk ibu namun juga untuk bayi yang dikandungnya. Masalah gizi yang sering terjadi adalah anemia. Pada umumnya anemia terjadi akibat peningkatan volume plasma dalam darah dan kekurangan zat besi. Anemia pada ibu hamil adalah rendahnya kadar haemoglobin yaitu pada trimester pertama sebesar 11gr%, dan 10,5 gr% pada trimester kedua. Anemia dapat menimbulkan beberapa masalah seperti abortus, Berat Bayi Lahir Rendah (BBLR), partus presipitatus, *haemoragic post partum* (HPP) akibat dari atonia uteri, partus lama, syok, infeksi serta masalah-masalah lainnya yang dapat membahayakan ibu maupun bayi yang dikandungnya (Prawirohardjo, 2009).

Di Indonesia sendiri tercatat dari hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, prevalensi anemia pada ibu hamil sebesar 37,1%. Angka yang fantastis mengingat banyaknya penduduk yang ada di Indonesia (Depkes RI, 2013).

Melihat banyaknya kejadian anemia yang ada di Indonesia serta hal-hal lanjutan yang dapat terjadi jika seorang ibu hamil mengalami anemia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mengeluarkan peraturan terkait pemberian tablet tambah darah bagi wanita subur dan ibu hamil dalam Permenkes RI Nomor 88 Tahun 2014. Setiap tablet tambah darah yang diberikan

mengandung zat besi setara dengan 60mg besi elemental (dalam bentuk sediaan *Ferro Sulfat*, *Ferro Fumarat* atau *Ferro Gluconat*); dan *Asam Folat* 0,400 mg. Dengan spesifikasi warna merah tua, berbentuk bulat atau lonjong, berbentuk tablet salut gula. Suplementasi besi/asam folat pada masa kehamilan sebanyak 1 tablet setiap harinya selama 90 hari (Permenkes RI, 2014).

Program pemberian tablet besi merupakan pelayan kesehatan pada ibu hamil yaitu pada kunjungan pertama hingga kunjungan keempat (K1-K4) karena diberikan pada saat ibu hamil melakukan kunjungan ke pelayanan kesehatan. Pemberian tablet besi ini merupakan salah satu syarat terpenuhinya kunjungan ibu hamil K4 (Kemenkes RI, 2013).

Dengan adanya anjuran pemberian tablet besi pada wanita subur dan wanita hamil, tanpa pemberian informasi penggunaan obat yang benar maka akan banyak hal yang tidak diinginkan terjadi. Selain manfaat yang diberikan oleh suplementasi besi juga terdapat efek samping yang sering terjadi pada ibu hamil. Efek samping yang ditimbulkan sebagian besar adalah pada pencernaan seperti mual, muntah, diare, sembelit, dan konstipasi (Ahmed EB et al, 2015).

Pemberian zat besi dalam jumlah yang tinggi dapat menimbulkan sifat basa pada lambung yang memicu peningkatan kolonisasi *Helicobacter pylori* pada mukosa lambung. Hal ini disebabkan oleh adanya penahanan asam lambung untuk keluar. Kondisi basa ini akan lebih di dukung jika seorang wanita tidak mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan yang adekuat (Tetsufumi K et al., 2002).

Selain itu konsumsi zat besi dapat meningkatkan produksi dari Spesies oksigen reaktif (ROS) yang apabila tanpa adanya anti oksidan akan menjadi radikal bebas yang berlebihan. Adanya radikal bebas berlebihan dalam sel dapat

menyebabkan penurunan antioksidan, penurunan perlindungan mukosa lambung dan peningkatan peroksidasi lipid dapat menginduksi terjadinya ulkus peptikum (Rahardjani dan Budi, 2010).

Melihat banyaknya efek samping yang terjadi terkait masalah pencernaan, maka penelitian ini perlu dilakukan guna melihat kondisi lambung yang mana merupakan bagian utama penyimpanan makanan sebelum dicerna lebih lanjut pada tikus putih jenis *rattus norvegicus strain wistar* bunting yang diberikan suplementasi besi berbagai dosis.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap kondisi makroskopis lambung tikus putih jenis *rattus norvegicus strain wistar* bunting?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu tujuan umum dan tujuan khusus.

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) berbagai dosis terhadap kondisi makroskopis lambung tikus putih.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini yaitu;

1. Untuk mengidentifikasi adanya ulkus lambung pada kelompok tikus yang diberi suplementasi besi (Fe) dosis tinggi dengan kelompok kontrol.
2. Untuk mengetahui pada dosis berapa suplementasi besi (Fe) dapat mengakibatkan timbulnya ulkus lambung.

3. Untuk mengetahui perbedaan yang terjadi pada kejadian ulkus lambung pada tiap kelompok perlakuan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah pengetahuan akademik mengenai efek yang dihasilkan oleh pemberian suplementasi Fe berbagai dosis terhadap kondisi lambung pada hewan coba serta dapat menambah data dasar untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi pertimbangan dalam memberikan informasi yang akurat bagi wanita subur dan ibu hamil akan pentingnya mengkonsumsi suplemen besi Fe dalam jumlah yang seimbang sesuai dengan anjuran WHO. Bagi para praktisi kesehatan, penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan rujukan dalam usaha meningkatkan angka kesehatan ibu dan bayi, serta menurunkan angka kesakitan pada ibu hamil.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Besi (FE)

2.1.1 Definisi dan Fungsi Zat Besi (FE)

Zat besi merupakan mikroelemen yang sangat diperlukan tubuh terutama dalam proses pembentukan sel darah merah. Zat besi juga dibutuhkan sebagai salah satu komponen terbentuknya mioglobin (protein pembawa oksigen ke otot) (Almatsier, 2009).

Besi dalam tubuh diperlukan sebagai pembentukan kompleks besi sulfur dan heme. Kompleks besi sulfur diperlukan dalam kompleks enzim yang berfungsi sebagai metabolisme energi. Heme tersusun atas cincin porifin dengan atom besi di sentral cincin yang memiliki peran sebagai pengangkut oksigen pada hemoglobin dalam eritrosit dan mioglobin (Sukrat & Sirichotiyakul, 2006).

Terdapat dua bentuk besi bebas yaitu ferro (Fe^{2+}) dan ferri (Fe^{3+}). Besi dalam bentuk ferri umumnya terdapat dalam kondisi tubuh dengan konsentrasi oksigen yang tinggi, hal ini dikarenakan besi dalam bentuk ferri terikat dengan hemoglobin sedangkan besi dalam bentuk ferro terdapat dalam transport transmembran, deposisi dalam bentuk feritritin dan sintesis heme (Sukrat & Sirichotiyakul, 2006).

Saat kehamilan oksigen yang dibutuhkan lebih tinggi sehingga dapat memicu terjadinya peningkatan produksi eritropoietin yang mengakibatkan volume plasma dan sel darah merah meningkat. Namun volume plasma yang meningkat ini terjadi dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan peningkatan

eritrosit sehingga terjadi penurunan konsentrasi hemoglobin akibat dari hemodilusi (Abdulmuthalib, 2009).

Kondisi konsentrasi yang berbeda pada wanita hamil disebabkan oleh terjadinya proses hemodilusi atau pengenceran darah, yaitu peningkatan volume plasma yang lebih besar dibandingkan dengan peningkatan pada eritrosit. Hemodilusi berfungsi agar suplai darah untuk pembesaran uterus terpenuhi, melindungi ibu serta janin dari efek negatif kehilangan darah saat proses melahirkan (Cunningham, 2007).

2.1.2 Definisi Tablet Tambah Darah

Tablet tambah darah adalah suplemen yang memiliki kandungan zat besi di dalamnya. Dikonsumsi sebagai tambahan mineral yang akan dibutuhkan untuk membentuk sel darah merah dalam tubuh (Soebroto, 2009).

2.1.3 Sumber Zat Besi

Zat besi yang terdapat di alam dapat berasal dari makanan hewani, seperti daging sapi, daging ayam, ikan, telur, maupun hati ayam. Sedangkan yang berasal dari nabati dapat berupa sereal, kacang-kacangan, sayuran hijau dan beberapa jenis buah. Namun selain zat besi, perlu juga diperhatikan kualitas besi yang terdapat di dalamnya atau disebut juga ketersediaan biologik (bioavailability). Kandungan besi dalam daging, ayam, dan ikan mempunyai ketersediaan biologik tinggi, besi di dalam sereal dan kacang-kacangan mempunyai ketersediaan biologik sedang, dan besi dalam sebagian besar sayuran, terutama yang mengandung asam oksalat tinggi, seperti bayam mempunyai ketersediaan biologik rendah (Ahmed et al, 2001).

2.1.4 Metabolisme Besi

Dalam tubuh, zat besi mengalami beberapa proses metabolisme dimulai dari penyerapan, pengangkutan, pemanfaatan, penyimpanan, dan ekskresi zat besi. Pada proses awal sebelum dilakukan absorpsi, dengan bantuan asam askorbat dalam lambung besi dalam jenis non heme diubah dari bentuk ferri (Fe^{3+}) menjadi ferro (Fe^{2+}), hal ini bertujuan agar zat besi mudah untuk diserap, sedangkan besi dalam jenis heme akan langsung di absorpsi. Sekitar 5-10% akan diserap dalam bentuk Fe^{2+} di duodenum dan sebagian kecil di jejunum. Pada kondisi asam, zat besi lebih banyak diserap. Fe akan disimpan dalam bentuk ferritin. Absorpsi zat besi dipengaruhi oleh protein HFE. HFE akan menempel pada reseptor transferrin (protein pengangkut Fe). Fe akan memasuki aliran darah dan bergabung dengan protoporphyrin membentuk heme. Kemudian heme akan berikatan dengan rantai globin untuk membentuk hemoglobin. Pada sel darah merah yang tua dan telah dipecah oleh makrofag, Fe akan kembali ke aliran darah dan siap digunakan kembali. Zat besi yang berasal dari makanan akan di absorpsi di bagian proksimal duodenum dengan bantuan alat angkut protein khusus yaitu *transferrin reseptor*. Transferrin reseptor akan mengangkut besi melalui darah ke semua jaringan tubuh. Sedangkan transferrin mukosa akan mengangkut besi dari lumen saluran cerna menuju mukosa dalam. Zat besi dari makanan yang diserap oleh duodenum sebagian akan masuk ke dalam plasma darah dan yang tidak terserap akibat sudah tercukupinya kadar zat besi dalam tubuh akan dikeluarkan dari tubuh bersama dengan feses. Zat besi dalam plasma akan mengalami proses *turn over* atau pergantian sel-sel darah merah baru. Sebanyak 35mg tiap hari terjadi proses *turn over* besi, dimana sebanyak 34mg berasal dari makanan dan sisanya berasal dari sel-sel yang telah mati

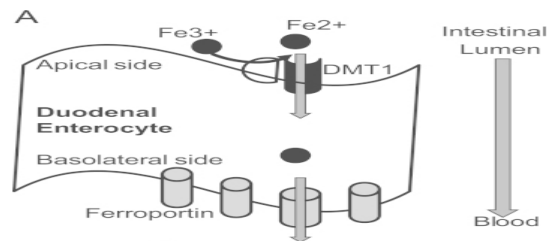
maupun dari penghancuran sel-sel darah merah yang sudah tua. Kemudian, dengan menggunakan transferin reseptor, zat besi akan disalurkan ke seluruh jaringan tubuh, dan sebagian besi lainnya akan disalurkan menuju sumsum tulang untuk digunakan sebagai pembentukan sel darah merah yang baru. Ketika tubuh memiliki kelebihan besi, maka akan disimpan sebagai protein ferritin dan homosiderin di dalam hati sebanyak 30%, sumsum tulang belakang 30%, selebihnya akan disimpan di dalam limpa dan otot. Untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari setiap 50mg dari simpanan besi dalam tubuh akan digunakan untuk pembentukan hemoglobin. Besi dari sel-sel yang sudah mati pada akhirnya akan diekskresikan melalui kulit, saluran pencernaan berupa feses, ataupun melalui urin yang berjumlah 1 mg setiap harinya, hal ini disebut dengan kehilangan basal (*Iron basal losses*) (Noviawati, 2012).

2.1.5 Absorpsi Zat Besi

Proses absorpsi paling banyak terdapat di bagian proksimal duodenum karena pH dari asam lambung serta kepadatan protein yang diperlukan dalam absorpsi besi pada epitel usus. Terdapat 3 fase absorpsi, yaitu:

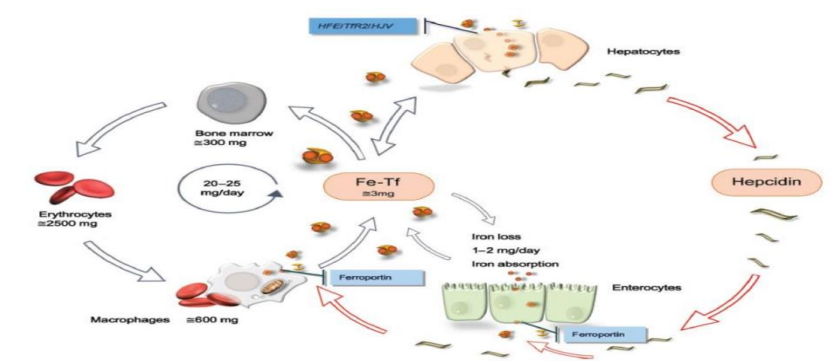
1. Fase luminal: Dua bentuk besi mengalami pengolahan awal di dalam lambung agar siap diserap oleh duodenum. Dua bentuk tersebut adalah (Noviawati, 2012) :
 - a. Besi heme: Bioavailabilitas dan tingkat absorpsinya tinggi.
 - b. Besi non-heme: Bioavailabilitas ndan tingkat absorpsinya rendah.
2. Fase mukosal: Penyerapan besi dalam mukosa usus, dimana Fe^{2+} akan masuk ke enterosit melewati membrane apical melalui *divalent metal transporter 1* (DMT1). Besi dalam sel enterosit disimpan dalam bentuk ferritin serum atau disalurkan ke plasma melalui membrane basolateral.

Melalui protein transmembran feroportin, besi akan dikeluarkan ke sirkulasi dari membrane basolateral. Hal ini diperjelas pada gambar 2.1 dibawah (Larson & Coyne, 2013).



Gambar 2.1 Proses absorpsi besi di enterosit. Keterangan: DMT1; Divalent Metal Transporter 1. (Larson & Coyne, 2013)

3. Fase Korporeal: Meliputi proses transportasi, pengambilan besi untuk digunakan, dan penyimpanan. Setelah diabsorpsi, besi akan dalam bentuk terikat transferrin menuju sistem porta hepatic sebagai tempat penyimpanan utama besi. Melalui *Transferrin Receptor1* dan 2 (TfR1 dan TfR2) besi akan diikat oleh sel hepatosit yang kemudian akan disimpan dalam bentuk ferritin (Sudoy dkk, 2009). Pada gambar 2.2 dijelaskan bahwa besi yang berikatan dengan transferin akan dibawa ke sumsum tulang untuk pembentukan sel darah merah. SDM yang sudah tua akan difagositosis makrofag pada sistem retikuloendotelial (Janssen & Swinkles, 2009).



Gambar 2.2 Penyerapan dan daur ulang besi di dalam tubuh (Janssen & Swinkles, 2009)

Dalam tubuh, normalnya kadar besi adalah sebesar 3-4 gram, dan kandungan terbanyak adalah dalam bentuk hemoglobin sebesar 2,5 gram, protein lainnya yang mengandung besi seperti mioglobin, sitokrom, katalase sebesar 400 mg, terikat pada transferin sebesar 3-7 mg, dan sisanya adalah cadangan dalam bentuk besi feritritin serum atau hemosiderin. Setiap harinya usus akan menyerap besi sebesar 1-2 mg. sedangkan kebutuhan besi untuk proses eritopoiesis sebanyak 20-25 mg besi didapatkan dari besi di sistem retikuloendoplasma (Andrews 2008).

2.1.6 Kebutuhan Zat Besi dan Suplementasi Zat Besi

Zat besi yang diserap dalam tubuh berbeda-beda baik antara tiap individum jenis kelamin, usia, maupun kondisi fisiologisnya. Kebutuhan zat besi ini telah dijelaskan dalam PERMENKES RI NOMOR 75 TAHUN 2013 tentang angka kecukupan kecukupan gizi yang dianjurkan bagi bangsa Indonesia, seperti yang terdapat pada Tabel 2.1 sebagai berikut (KEMENKES, 2013):

Tabel 2.1 Angka Kecukupan Zat Besi

Kelompok Umur	BB (kg)	TB (cm)	Energi (kkal)	Besi (mg)
Perempuan				
10 – 12 tahun	36	145	2000	20
13 – 15 tahun	46	155	2125	26
16 – 18 tahun	50	158	2125	26
19 – 29 tahun	54	159	2250	26
30 – 49 tahun	55	159	2150	26
50 – 64 tahun	55	159	1900	12
65 – 80 tahun	54	159	1550	12
80+ tahun	53	159	1425	12
Hamil (+an)				
Trimester 1			+180	+0
Trimester 2			+300	+9
Trimester 3			+300	+13
Menyusui (+an)				
6 bulan pertama			+330	+6
6 bulan kedua			+400	+8

Keterangan: Angka kecukupan gizi dilihat dari usia, berat badan, tinggi badan, pemasukan energi dan juga zat besi (KEMENKES, 2013).

Berdasar pada tabel AKG tersebut, tingginya kebutuhan zat besi (Fe) pada wanita usia subur dan ibu hamil, membuat pemerintah mengeluarkan PMK No. 88 tentang standar tablet tambah darah bagi wanita usia subur dan ibu hamil. Peraturan menteri kesehatan ini dibuat sebagai acuan pemberian dosis minimal, jenis maupun ketersediaan suplemen besi (KEMENKES, 2014).

Tablet tambah darah bagi wanita subur dan ibu hamil ini berbentuk bulat/lonjong, berwarna merah tua, dan merupakan tablet salut gula. Setiap tabletnya mengandung zat besi setara dengan 60 mg besi elemental (dalam

bentuk sediaan *Ferro Sulfat*, *Ferro Fumarat* atau *Ferro Gluconat*), serta asam folat 0,400 mg (KEMENKES, 2014).

Dalam sebuah penelitian pada tahun 1999 mengenai *Clinical iron overdose* ditemukan jumlah dosis zat besi maksimal sejumlah >20 mg/kgbb untuk dosis ringan hingga sedang, >60mg/kgbb untuk keracunan berat, dan dosis >150 mg/kgbb untuk dosis keracunan mematikan, seperti yang tertera pada Tabel 2.2 berikut (Sarah& Nicola, 1999).

Tabel 2.2 Panduan Kasar untuk Dosis Beracun Unsur Besi yang Dikonsumsi

Dosis Cerna	Keparahan Keracunan
>20 mg/kg berat badan	Ringan – sedang
>60 mg/kg berat badan	Keracunan berat
>150 mg/kg berat badan	Keracunan mematikan

(Sarah & Nicola, 1999).

2.1.7 Efek Samping Suplementasi Zat Besi

Pada sebagian orang, suplementasi zat besi secara oral dapat memberikan dampak berupa munculnya efek samping pada saluran gastrointestinal, seperti mual, muntah, kram lambung, nyeri ulu hati dan diare. Frekuensi efek samping ini berkaitan langsung dengan dosis zat besi (Susiloningtyas, 2018).

2.1.8 Stress Oksidatif Akibat Suplementasi Zat Besi Dosis Tinggi

Stres oksidatif berawal dari plasenta. Mulanya plasenta memiliki lingkungan yang hipoksia. Ketika plasenta matang dan vaskularisasi berkembang, merubah plasenta menjadi lingkungan yang kaya akan oksigen dan melimpahnya massa dari mitokondria, hal ini mendukung produksi spesies

oksigen reaktif (ROS), yang meningkatkan besi bebas yang dibebaskan dari gugus besi-sulfur (Liochev & Friedovich, 1997).

Stres oksidatif digambarkan sebagai ketidakseimbangan dalam produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan kemampuan pertahanan antioksidan untuk mengais ROS. Hal ini dapat timbul dari peningkatan prodeuksi ROS dan/atau penurunan kapasitas antioksidan. ROS ini merupakan radikal bebas dan dapat menyebabkan kerusakan seluler dengan bertindak pada protein, lemak serta DNA, yang mana hal ini dapat merugikan sel sel yang ada di dalam tubuh (Leslie & Xiaolan, 2004).

Spesies oksigen reaktif (ROS) adalah radikal senyawa yang mudah membentuk radikal bebas yang cenderung reaktif dan bereaksi dengan senyawa lain. Di dalam tubuh ROS cenderung bereaksi dengan jaringan sehingga menimbulkan reaksi berantai yang berujung pada kerusakan jaringan. Produksi ROS yang meningkat dapat merusak sel dengan cara merusak membrane sel dan dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membrane sel (Chertow, 2004). Peroksidasi lipid membrane sel akan mempengaruhi fluiditas membrane, struktur dan fungsi membrane (Powers & Jackson, 2008). Adanya radikal bebas berlebihan dalam sel dapat menyebabkan penurunan antioksidan, penurunan perlindungan mukosa lambung dan peningkatan peroksidasi liid dapat menginduksi terjadinya ulkus peptikum (Rahardjani & Budi, 2010).

2.1.9 Zat Besi Mendukung Pertumbuhan *Helicobacter Pylori*

Pemberian zat besi dalam jumlah yang tinggi dapat menimbulkan sifat basa pada lambung. Hal ini disebabkan oleh adanya penahanan asam lambung untuk keluar. Kondisi basa ini akan lebih di dukung jika seorang wanita tidak

mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan yang adekuat (Tetsufumi K et al., 2002)

Semakin basa kondisi lambung akan menimbulkan peningkatan kolonisasi *Helicobacter pylori* pada mukosa lambung. Bakteri ini dapat terus tumbuh pada lambung dengan output asam yang rendah, dan penghambatan output asam lambung. Hal ini akan diperparah dengan tingginya kadar zat besi yang berada dalam lambung (Tetsufumi K et al., 2002).

2.2 Lambung

2.2.1 Definisi

Lambung adalah organ dalam rongga peritoneum yang letaknya berada diantara esofagus dan usus halus yang memiliki bentuk menyerupai kantung. Lambung terdiri atas beberapa bagian yaitu, antrum kardia (yang menerima esofagus), fundus, korpus dan pylorus (Price & Wilson, 2006).

Lambung terdiri dari berbagai otot polos yang mampu mengubah padatan atau bolus makanan menjadi lebih halus ataupun serupa dengan pasta yang secara ilmiah disebut dengan *chyme*. Bolus yang berasal dari esophagus tidak langsung dicerna oleh lambung, tetapi sebagian akan menetap terlebih dulu di bagian fundus lambung, sisanya akan dicampur dengan kelenjar yang ada di dalam lambung (Sullivan, 2004).

2.2.2 Ulkus Lambung

Ulkus lambung adalah suatu kondisi dimana lapisan mukosa epitel hingga submukosa yang terdapat pada lambung mengalami kerusakan hingga menimbulkan nyeri serta perdarahan. Ulkus lambung ini seringkali disebabkan oleh penggunaan obat NSAID dan infeksi dari bakteri *Helicobacter pylori* (Lilihata et al, 2014).

Menurut Lilihata *et all*, (2004) Ulkus lambung dapat terjadi akibat dari ketidakseimbangan faktor pertahanan dan faktor penyerang pada mukosa lambung. Terdapat 3 faktor pertahanan pada mukosa, yaitu:

1. Pre-epitel

Pertahanan ini terdiri atas mukus yang membentuk lapisan hidrofobik sehingga ion-ion hydrogen dan pepsin tidak dapat menembusnya dan bikarbonat yang memiliki fungsi sebagai penetral asam lambung dan mempertahankan pH antara 6 – 7, walaupun pH lumen lambung berkisan antara 1 – 2.

2. Epitel

Sel-sel epitel mukosa lambung memproduksi mukus, mentranspor ion dan bikarbonat ke ekstraseluler dan menjaga pH intraseluler.

3. Post/subepitel

Tempat dimana terdapat jaringan pembuluh darah dalam lambung yang memiliki peran sebagai vakularisasi lambung untuk menyuplai nutrisi, oksigen dan bikarbonat sekaligus mengangkut hasil metabolik yang bersifat toksik dari lambung.

Sedangkan faktor penyerang terdiri dari:

1. Eksogen: obat-obatan (NSAIDs), rokok
2. Endogen: Asam Lambung

2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar menurut Myres & Armitage (2004):

Kingdom : Animalia

Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub – Famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: Rattus norvegicus
Galur/Strain	: Wistar

2.3.2 Tikus Wistar

Hewan coba merupakan hewan yang dengan sengaja dikembang biakkan untuk selanjutnya digunakan sebagai hewan uji coba. Tikus merupakan salah satu hewan yang paling sering digunakan sebagai hewan coba dalam berbagai macam penelitian medis, hal ini dikarenakan karakteristik yang dimiliki tikus. Tikus memiliki karakteristik genetic yang unik, mudah berkembang biak, ekonomis, serta mudah untuk didapatkan (Adiyati, 2011).

Strain/Galur yang paling sering digunakan salah satunya adalah galur *Wistar*. Tikus putih galur *Wistar* memiliki ciri-ciri yaitu, bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga pendek dan tebal dengan rambut halus, mata berwarna merah, dan ekornya tidak pernah lebih panjang dari tubuhnya. Berat tubuh tikus jantan pada usia dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram, 40 gram lebih kecil disbanding berat tubuh jantannya. Rentan hidupnya adalah berkisar antara 4 – 5 tahun dengan berat badan umum rata-rata berkisar 267 – 500 gram pada tikus jantan dan 225 – 325 pada tikus betina. Galur ini berasal dari peternakan Institus *Wistar* pada tahun

1906 (Sirois, 2005). Data fisiologis tikus secara garis besar dapat dilihat pada Tabel 2.3 berikut ini.

Tabel 2.3 Data Fisiologis Tikus

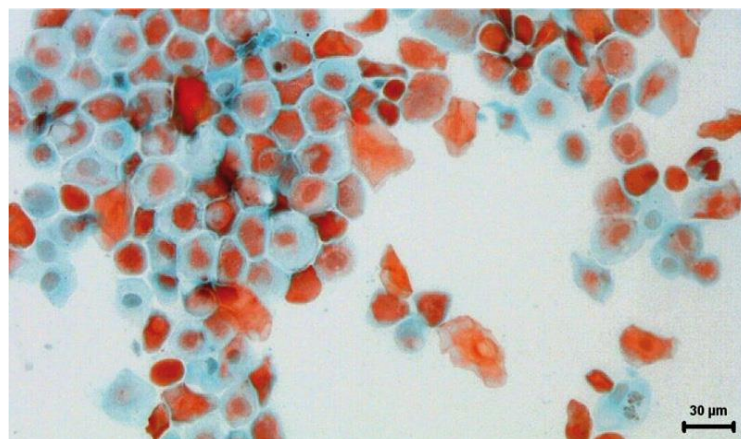
Kriteria	Nilai
Berat badan dewasa jantan	450 – 220 g
Berat badan dewasa betina	250 – 300 g
Berat lahir	5 – 6 g
Suhu tubuh	35,9 – 37,5 C
Harapan hidup	2,5 – 3,5 tahun
Konsumsi makanan	10 g/100 g/hari
Konsumsi air minum	10 – 12 ml/100 g/hari
Detak jantung	250 – 450/menit
Volume darah	54 – 70 ml/kg
Tekanan darah	84 – 134/60 mmHg
Protein serum	5,6 – 7,6 g/dl
Albumin	3,8 – 4,8 g/dl
Globulin	1,8 – 3,0 g/dl
Glukosa serum	50 – 135 mg/dl
Nitrogen urea darah	15 – 21 mg/dl
Kreatinin	0,2 – 0,8 mg/dl
Total bilirubin	0,20 – 0,55 mg/dl
Lemak serum	70 – 415 mg/dl
Fosfolipid	36 – 130 mg/dl
Trigliserida	26 – 145 mg/dl
Kolesterol	40 – 130 mg/dl

(Malole & Pramono, 1989)

2.3.3 Siklus Reproduksi

1. Fase proestrus

Fase proestrus adalah fase dimana korpus luteum mulai mengecil dan menyebabkan hormon progesterone dalam tubuh tikus semakin turun. Fase proestrus akan berakhir saat fase estrus dimulai (Feradis, 2010). Saat tubuh tikus mengalami fase ini folikel de graaf yang dipengaruhi oleh FSH akan tumbuh dan menghasilkan peningkatan jumlah estradiol (Toelihere, 1981). Lamanya fase ini rata-rata selama 12 jam. Pada hapusan vagina akan dijumpai sel-sel epitel berinti yang tumbuh berlapis maupun tunggal (Smith, 1987; Turner, 1988) Hal ini diperjelas dengan gambar 2.3 dibawah ini.

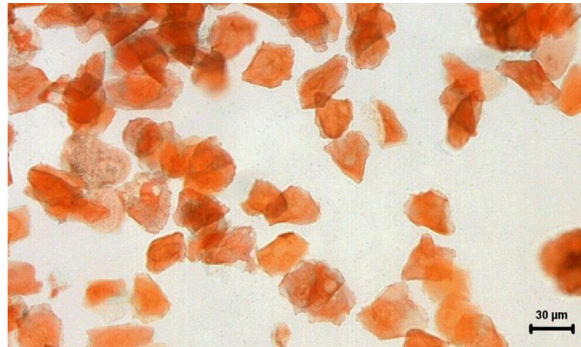


Gambar 2.3 Sel-sel epitel berinti pada fase proestrus (Paccola, 2013)

2. Fase Estrus

Fase ini adalah saat dimana hewan betina akan menerima pejantannya untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam (Baker et al, 1980). Pada fase ini tingkat sensitivitas sel penghasil gonadotropin pada hipofisa akan meningkat, hal ini diakibatkan oleh kerja hormone estrogen. Dengan begitu LH akan terbentuk yang dapat menyebabkan ovulasi saat kadar LH mencapai

puncaknya (Hafez et al, 2000). Pada hasil hapusan vagina akan Nampak epitel bertanduk dengan bentuk yang tidak beraturan dan berukuran besar (Paccola, 2013) diperjelas melalui gambar 2.4 dibawah ini.



Gambar 2.4 Fase Estrus. Sel epitel terlihat besar dan seperti memiliki tanduk (Paccola, 2013)

3. Fase Metestrus

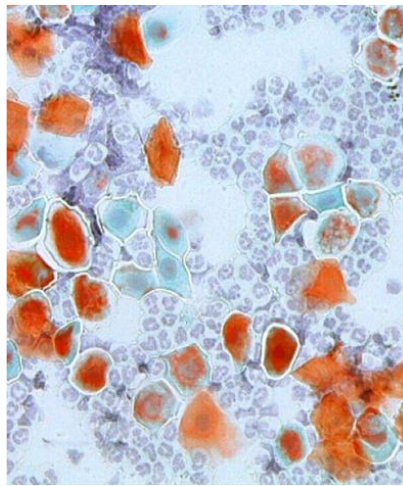
Fase Metestrus terjadi segera setelah ovulasi, korpus luteum terbentuk yang dipengaruhi oleh LH. Lumen vagina akan terisi dengan leukosit dan sedikit sel-sel menanduk (Feradis, 2010; Turner, 1988) seperti pada gambar 2.5 dibawah. Terdapat 2 stadium pada fase ini dimana masing masing fasenya memiliki jangka waktu 15 jam dan 6 jam (Smith, 1987).



Gambar 2.5 Fase Metestrus. Terlihat adanya bintang berwarna hitam yang merupakan leukosit (Paccola, 2013)

4. Fase Diestrus

Fase ini adalah fase terakhir pada hewan dan berlangsung paling lama yaitu selama 48 jam. Korpus luteum akan mature dan progesterone semakin terlihat pengaruhnya pada saluran reproduksi. Pada pemeriksaan hapusan vagina akan nampak jumlah leukosit yang semakin banyak, mukus dan epitel berinti yang tersebar dan homogen (Hunter, 1995) seperti pada gambar 2.6 dibawah ini.

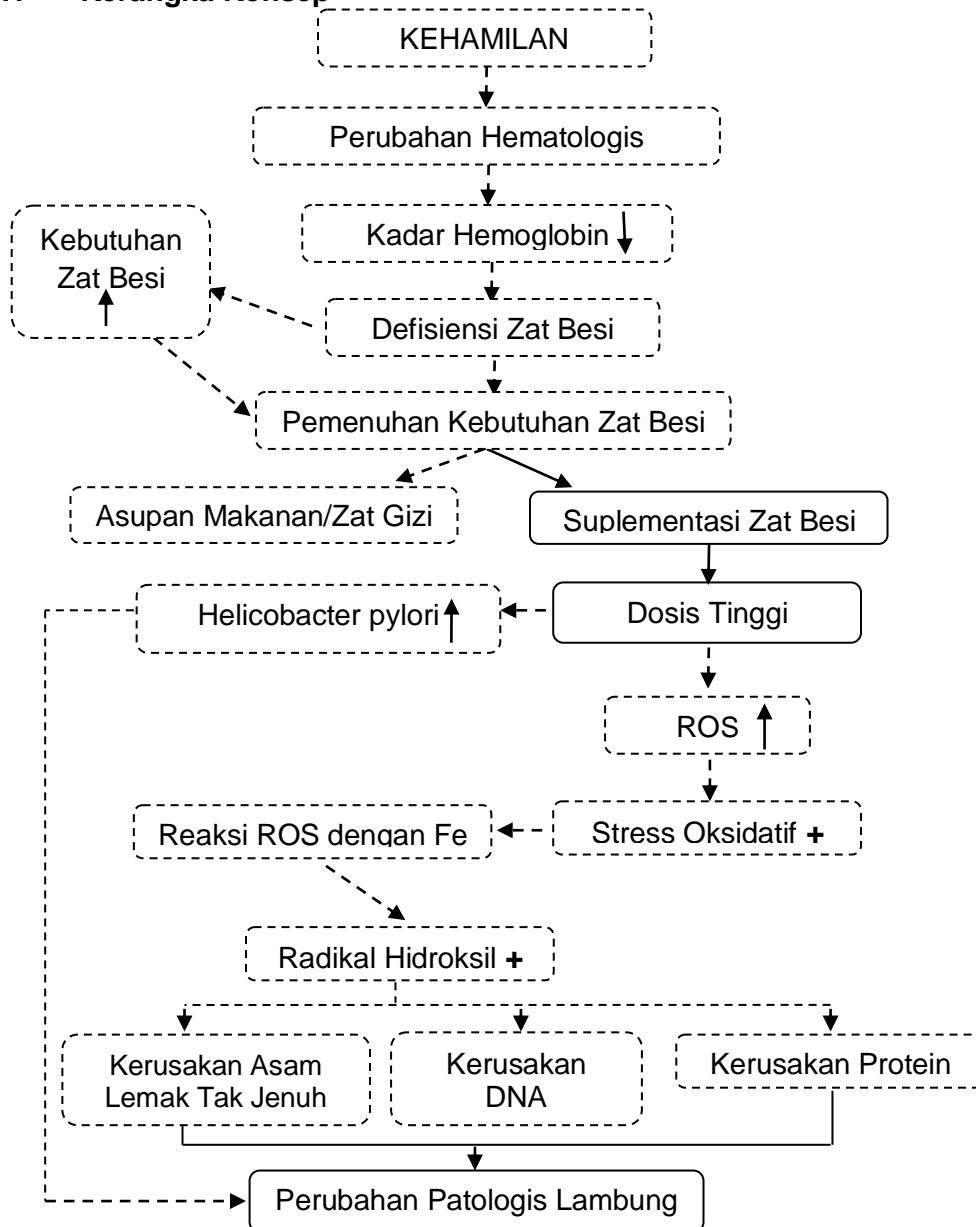


Gambar 2.6 Fase Diestrus. Mukus terlihat berwarna biru muda, terlihat banyak penyebaran leukosit (Pacoola, 2013).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

 = Diteliti → = Mempengaruhi dan tidak diteliti
 = Tidak diteliti → = Mempengaruhi dan diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan Kerangka Konsep

Kehamilan merupakan suatu kondisi alami yang dapat menyebabkan berbagai perubahan dalam tubuh seseorang yang mengalaminya. Salah satu perubahan yang terjadi adalah perubahan hematologis fisiologis yang mana kadar hemoglobin dalam darah akan menurun. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya kadar besi dalam tubuh. Keluhan keluhan seperti gejala anemia pun muncul sehingga memotivasi ibu hamil untuk mengunjungi bidan maupundokter kandungan. Saran dan perlakuan yang akan diberikan adalah berupa peningkatan asupan makanan yang mengandung besi dengan kadar yang tinggi maupun pemberian suplemen zat besi (Prawirohardjo, 2009).

Pemberian suplementasi zat besi dengan dosis yang tinggi maupun tidak terukur justru menjadikan *boomerang* kepada ibu hamil tersebut. Tingginya kadar zat besi dalam tubuh akan mudah memicu terjadinya radikal bebas dalam tubuh serta memberikan lingkungan yang baik bagi bakteri *Helicobacter pylori* untuk berkembang biak di dalam lambung dan merusaknya. Apabila tubuh kekurangan asupan antioksidan hal ini akan lebih memudahkan terjadinya radikal bebas. Antioksidan sangat dibutuhkan karena sifatnya sebagai agen protektif yang menonaktifkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga secara signifikan dapat mencegah kerusakan oksidatif. Tanpa antioksidan yang tercukupi, ROS akan meningkat secara signifikan (Liochev & Friedovich, 1997).

Tingginya kadar ROS memicu timbulnya stress oksidatif. Adanya reaksi ROS terhadap Fe dapat menimbulkan terjadinya radikal hidroksil. Radikal hidroksil ini dapat menyebabkan kerugian-kerugian dalam tubuh antara lain kerusakan asam lemak tak jenuh, kerusakan DNA serta kerusakan protein, yang mana hal ini dapat merugikan sel sel yang ada di dalam tubuh (Rahardjani

&Budi, 2010). Dalam penelitian ini peneliti akan melihat bagaimana efek yang terjadi pada lambung terkait timbulnya perubahan patologis akibat adanya stress oksidatif maupun peningkatan *Hilobacter pylori* dalam tubuh.

3.2 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian suplementasi zat besi dosis tertentu terhadap kondisi makroskopis lambung tikus putih *Rattus norvegicus* Strain Wistar bunting.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *posttest only controls group design*. Pada penelitian ini hewan coba akan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok pertama sebagai kelompok kontrol yang tidak diberikan suplemen besi dan 3 kelompok lainnya adalah kelompok yang akan di berikan suplementasi zat besi.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus jenis *Rattus norvegicus* Strain Wistar buting sebagai hewan coba. Tikus yang akan digunakan diperoleh dan dipelihara di Laboraturium Farmakologi Fakultas Kedokteran Unversitas Brawijaya yang sehat secara fisik dengan berat rata-rata 150-250gram usia 8-10 minggu dan bergerak aktif. Jumlah estimasi sampel pada penelitian ini ditentukan dengan rumus Federer (Supranto, 2000) yaitu sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n= jumlah tikus tiap kelompok perlakuan

t= jumlah kelompok perlakuan

Pada penelitian ini t= 4 sehingga jumlah tikus tiap kelompok perlakuan adalah:

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15:3$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 5 + 1$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut maka didapatkan jumlah tikus pada tiap kelompok perlakuan yaitu 6 ekor tikus, dan untuk menjaga tingkat representatifnya tinggi jika terjadi *drop out* maka sampel diperbesar menjadi 12 ekor tikus tiap kelompoknya. Jadi, keseluruhan jumlah ekor tikus adalah $12 \times 4 = 48$ ekor tikus.

4.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus betina (*Rattus norvegicus*) strain wistar
2. Bunting
3. Tikus dalam keadaan sehat dengan nafsu makan baik, aktif serta bulu tikus putih bersih
4. Usia tikus 8-10 minggu
5. Berat badan antara 150-250 gram

4.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang terlihat sakit dan/atau mati selama penelitian berlangsung.
2. Tikus yang tidak bunting dalam waktu panjang selama penelitian berlangsung.

4.2.2 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) sebagai metode penentuan subjek dalam pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan

teknik randomisasi sederhana. Setiap hewan coba mempunyai peluang yang sama untuk digunakan sebagai sampel pada kelompok control dan kelompok perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: Pemberian suplementasi besi (Fe) dalam 3 dosis perlakuan
2. Variabel terikat: kondisi lambung tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* yang diberi suplementasi besi (Fe)

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan selama kurang lebih 2-3 bulan

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Makanan yang diberikan pada hewan coba adalah pakan standard dan minum.

4.5.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

Suplement zat besi (Fe) yang dilarutkan dengan akuades dan Carboxy Methyl Cellulose (CMC).

4.5.3 Alat Pemeliharaan Hewan Coba

1. Kandang

Kandang tikus yang berupa box plastik berukuran 29,5 x 21,5 cm sebanyak 24 buah diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang ditempati 2 ekor tikus betina yang sudah dikawinkan dengan 1 ekor tikus jantan.

2. Alat pembuatan makanan hewan coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, pengaduk, nampan, tempat minum, alat semprot.

3. Tempat minum tikus.

4.5.4 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

Alat untuk penimbangan berat badan hewan coba yang akan digunakan adalah neraca ohaus.

4.5.5 Alat Penunjang

Timbangan hewan, timbangan analitik, kandang tikus, lumping, stamper, gelas ukur, spatel, pinset, tisu, batang pengaduk, tabung sediaan 10cc, sonde, spuit dan kamera.

4.5.6 Alat Pemberian Suplementasi Besi (Fe)

Suplemen besi (Fe) akan diberikan setiap harinya dengan menggunakan spuit dan sonde.

4.5.7 Alat Pembedahan dan Pengambilan Lambung Tikus

Alat yang akan dilakukan untuk melakukan pembedahan adalah kapas, scalpel, gunting, pinset, jarum pentul, alat bedah / alas kayu dan *handscoon*.

4.6 Definisi Operasional

1. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jenis *Rattus Norvegicus* *Strain Wistar* bunting dengan usia 8-10 minggu dengan berat 150-250 gram.

2. Tikus Bunting

Tikus bunting adalah tikus yang sebelumnya telah dikawinkan dengan tikus berjenis kelamin jantan dan memperlihatkan tanda kebuntingan

berupa *vaginal plaque* akibat dari penggumpalan air mani, abdomen yang terlihat menggantung saat tubuh tikus diangkat bagian ekornya, berat badan yang bertambah minimal 3-5 gram setiap harinya.

3. Usia Kebuntingan Tikus

Usia kebuntingan tikus mulai dihitung sebagai hari pertama adalah satu hari sejak adanya *vagina plaque*.

4. Suplementasi besi (Fe)

Suplementasi besi (Fe) yang digunakan adalah jenis ferrous ferosus yang telah dilarutkan dengan akuades, kemudian diberikan peroral menggunakan sonde pada kelompok tikus bunting. Dosis yang akan diberikan yaitu 30, 60, dan 120 mg yang kemudian di konversikan menjadi dosis hewan yaitu 0,54mg/200gBB, 1,08mg/200gBB, dan 2,16mg/200gBB. Dosis tersebut ditentukan menggunakan deret ukur, yaitu berupa pengalihan. Dosis awal yang akan diberikan adalah 0,54mg/200gBB dimana dosis ini lebih rendah 0,54mg dibawah dosis standar yang diberikan pada ibu hamil, sedangkan dosis kedua yaitu 1,08mg/200gBB merupakan dosis standar yang diberikan kepada ibu hamil, dan dosis yang ketiga adalah 2,16mg/200gBB yang merupakan dosis tertinggi pada perlakuan. Pemberian Fe dimulai sejak hari pertama kebuntingan hingga hari ke-18.

5. Keadaan lambung

Keadaan lambung merupakan munculnya efek abnormal yang dilihat secara makroskopis pada lambung tikus putih berupa ulkus lambung akibat dari pemberian suplementasi besi (Fe) dalam dosis tinggi. Ulkus lambung dihitung menggunakan skor ulkus berdasarkan jumlah ulkus, serta kondisi

luka. Indikator ini ditentukan dengan pemeriksaan makroskopik menggunakan lup (Gusdinar dkk., 2009).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklitimasi Hewan Coba

Waktu aklitimasi dilakukan selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk menyesuaikan kondisi lingkungan sekitarnya dengan suhu ($\pm 22 - 25^{\circ}\text{C}$) dan diberikan pakan standart serat diberikan minum air kran secara *ad libitum*.

4.7.2 Prosedur Perawatan Tikus

Persiapan kandang : sekam, tutup kandang dan pemberian pakan standar dan minum. Sekam diganti setiap 3 hari sekali. Kandang pemeliharaan hewan coba yang digunakan adalah bak plastik dengan tutup kandang terbuat dari kawat. Pemberian makan tikus yaitu sebanyak 40g/hari/ekor dan diberikan minum sesuai kebutuhan dengan cara meletakkan tempat minum hewan coba di atas tutup kandang.

4.7.3 Inseminasi Kelompok Hewan Coba

Inseminasi dilakukan pada saat tikus betina memasuki fase estrus (fase birahi), dengan menggabungkan tikus jantan dan tikus betina dengan perbandingan 1:2 dalam sebuah kandang. Tikus jantan akan dimasukkan kedalam satu kandang yang sama dengan betinanya pada pukul 16.00 WIB. Jika pada hari selanjutnya ditemukan *vaginal plaque* pada pemeriksaannya maka kemungkinan sudah terjadi kebuntingan. Tikus yang telah bunting akan ditandai dan dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan yang sudah di tentukan.

4.7.4 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Dari 48 ekor sampel hewan coba yang digunakan, dibagi menjadi 4 kelompok secara random. Masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol

Tikus bunting yang tidak diberikan suplementasi besi (Fe)

2. Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 30mg/hari (0,54mg/200g BB)

3. Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 60mg/hari (1,08mg/200g BB)

4. Kelompok perlakuan 3 (P3): tikus bunting yang diberikan suplementasi besi (Fe) dengan dosis 120mg/hari (2,16mg/200g BB)

4.7.5 Penentuan Dosis Suplemen Besi (Fe)

Dosis suplemen besi (Fe) yang digunakan terdiri dari 3 macam dosis yaitu: 30mg, 60mg, dan 120mg. Masing-masing dosis dikonversikan menjadi dosis untuk tikus dengan satuan faktor konversi 0,018 untuk tikus dewasa dengan berat 200gr, seperti tabel 4.1 dibawah (Laurence dan Bacharach,1964).

Tabel 4.1 Tabel Konversi Dosis

Dicari Diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Keterangan: Konversi dosis dari hewan percobaan dengan manusia (Laurence dan Bacharach, 1964).

Maka dapat diketahui dosis untuk tikus yaitu:

1. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 30mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 30\text{mg} = 0,54\text{mg}/200\text{gBB}$$
2. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 60mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 60\text{mg} = 1,08\text{mg} / 200\text{gBB}$$
3. Dosis suplementasi besi (Fe) sejumlah 180mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 120\text{mg} = 2,16\text{mg}/200\text{gBB}$$

4.7.6 Prosedur Pembuatan Sediaan paparan

1. Gerus suplemen besi (Fe) hingga halus.
2. Larutkan serbuk suplemen besi (Fe) 60mg dengan menggunakan akuades. Kocok secara homogen.
3. Tambahkan Karboksimetil selulosa atau *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) sebanyak 2 gram sebagai pengental, penstabil emulsi atau suspensi dan bahan pengikat.

Berikut adalah perhitungan sediaan yang akan digunakan oleh 12 tikus dalam 1 hari.

1. Dosis 1. $0.54\text{mg}/200\text{g BBT}/\text{hari} \times 12 \text{ tikus} = 6,48 \text{ mg}$

$$\begin{aligned}\text{Sediaan} &= \frac{\text{Berat Tablet}}{\text{Kandungan Fe}} \times \text{Dosis} \\ &= \frac{311}{60} \times 6,48 \\ &= 33,588 \text{ mg}/12 \text{ tikus}/\text{hari}\end{aligned}$$

33,588mg Fe dilarutkan dengan 12cc aquades.

2. Dosis 2. $1.08 \text{ mg}/200\text{g BBT}/\text{hari} \times 12 \text{ tikus} = 12,96 \text{ mg}$

$$\begin{aligned}\text{Sediaan} &= \frac{\text{Berat Tablet}}{\text{Kandungan Fe}} \times \text{Dosis} \\ &= \frac{311}{60} \times 12,96 \\ &= 67,176 \text{ mg}/12 \text{ tikus}/\text{hari}\end{aligned}$$

67,176 mg Fe dilarutkan dengan 12cc aquades.

3. Dosis 3. $2,16 \text{ mg}/200\text{g BBT}/\text{hari} \times 12 \text{ tikus} = 25,92 \text{ mg}/12 \text{ tikus}$

$$\begin{aligned}\text{Sediaan} &= \frac{\text{Berat Tablet}}{\text{Kandungan Fe}} \times \text{Dosis} \\ &= \frac{311}{60} \times 25,92 \\ &= 134,352 \text{ mg}/12 \text{ tikus}/\text{hari}\end{aligned}$$

134,176 mg Fe dilarutkan dengan 12cc aquades.

Jumlah aquades bergantung pada jumlah hari dan tikus yang akan dipaparkan.

4.7.7 Prosedur Pemaparan Asupan Suplemen Besi (Fe)

Dosis yang digunakan adalah dosis yang telah dikonversikan untuk hewan coba tikus yang sebelumnya telah dilakukan pengukuran dosis dengan proses pengenceran. Sediaan yang telah dibuat akan diberikan kepada tikus dengan menggunakan sonde. Pemberian suplementasi besi (Fe) ini akan dilakukan selama 1 kali dalam 1 hari selama 18 hari di hitung sejak hari pertama kebuntingan.

4.7.8 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Lambung

Pembedahan dilakukan pada hari ke-19 kehamilan, yaitu saat kehamilan tikus sudah pada fase kehamilan aterm. Sebelum dibedah, tikus akan dikorbankan dengan cara mematahkan lehernya. Setelah tikus kehilangan kesadaran maka tindakan selanjutnya adalah memposisikan tikus diatas papan bedah. Tikus yang sudah pada posisinya akan difiksasi menggunakan jarum, selanjutnya dilakukan pembedahan dan dilakukan pengambilan organ lambung untuk selajutnya di teliti sesuai dengan rencana yang telah ditentukan.

4.7.9 Pemeriksaan Makroskopis

Pemeriksaan makroskopis lambung dilakukan dengan pembedahan lambung tikus yang telah diberi maupun yang tidak diberikan perlakuan. Lambung dibentangkan pada permukaan yang datar dan diamati secara makroskopis untuk diperiksa adanya ulkus/tukak pada lambung. Keparahan ulkus diukur dengan menghitung maupun mengukur diameter ulkus yang terbentuk. Ulkus akan dinilai dengan skor yang telah ditetapkan seperti pada tabel 4.2 dibawah ini (Gusdinar dkk, 2009).

Tabel 4.2 Skor Keparahan Ulkus

Jumlah Ulkus	Kondisi Ulkus	Skor
Lambung normal	Lambung normal	1
Bintik berdarah	Bintik berdarah	2
Jumlah ulkus 1-3 buah	Diameter ulkus 0,5-1,5 mm	3
Jumlah ulkus 4-6 buah	Diameter ulkus 1,6-4,0 mm	4
Jumlah ulkus 7-9 buah	Diameter ulkus >4,0 mm	5
Jumlah ulkus >9 buah	Perforasi	6

Keterangan: Semakin tinggi Skor ulkus yang didapatkan, maka semakin parah tingkat ulkus lambungnya. Sebaliknya, jika semakin rendah Skor ulkusnya maka tingkat keparahan ulkus lambung semakin rendah (Gusdinar dkk, 2009).

4.7.10 Pengukuran Skor Keparahan Ulkus

Pengukuran skor keparahan ulkus melalui prosedur sebagai berikut:

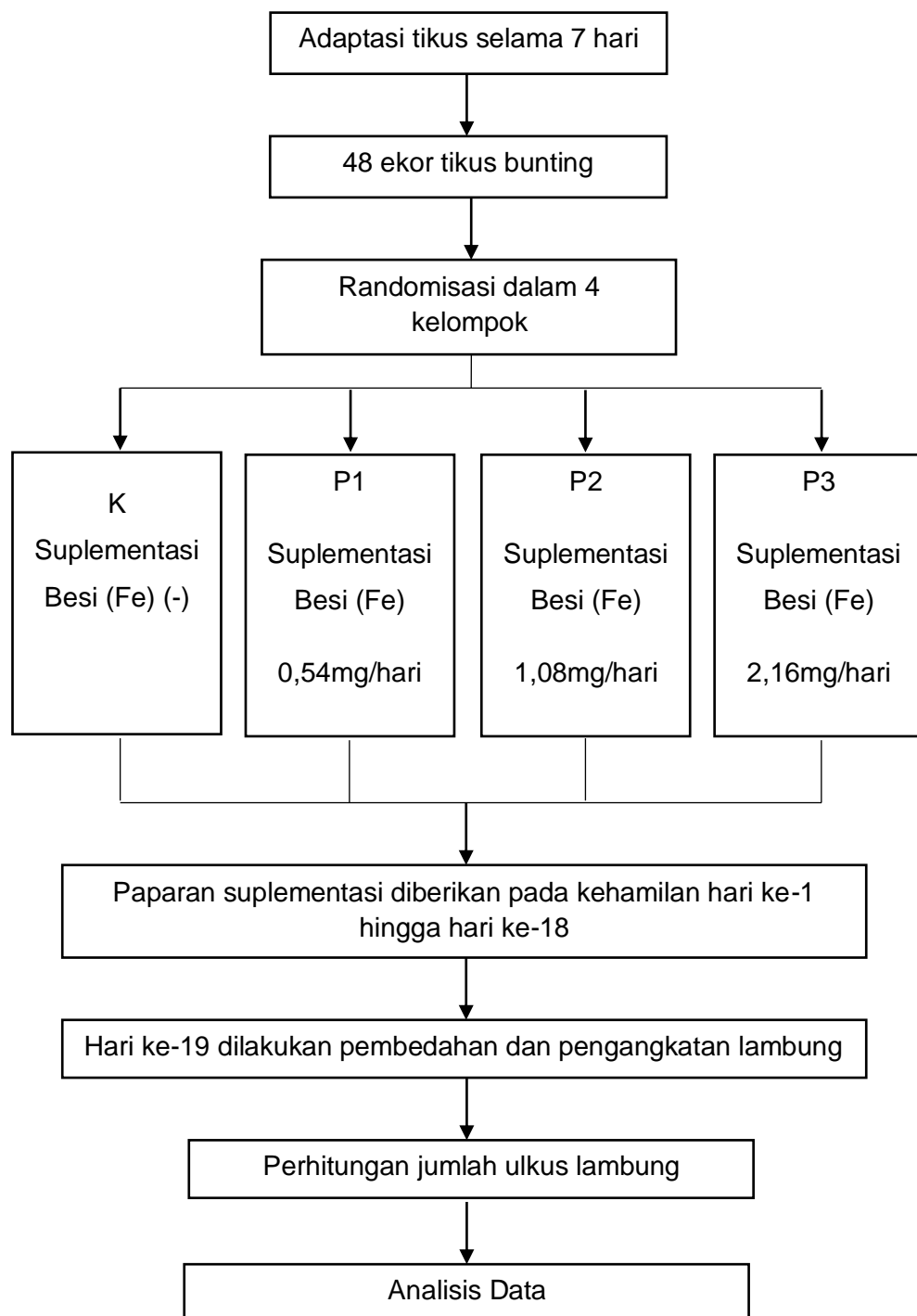
1. Organ lambung pada tikus diambil, lalu dibelah bagian kurvatur mayor
2. Lambung diletakkan di atas sterofoam
3. Pengambilan gambar dengan menggunakan kamera Oppo berjarak 20cm dari objek untuk bahan dokumentasi
4. Menghitung jumlah bintik perdarahan dan mengukur diameter ulkus menggunakan jangka sorong
5. Menentukan skor keparahan berdasarkan kriteria skoring (Gusdinar dkk, 2009).

4.7.11 Prosedur Penguburan Hewan Coba

Setelah dilakukan pembedahan serta pengambilan organ yang dibutuhkan, tikus akan dikuburkan dalam tanah dengan kedalaman 40cm di tempat yang sudah ditentukan. Penguburan ini akan dibantu oleh petugas laboran.

4.7.12 Alur Penelitian

Kerangka kerja (*Frame Work*) dalam penelitian ini adalah, sebagai berikut:



4.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 23.0 *for Windows*7 dengan tingkat signifikansi 0.5 ($p < 0.05$) dan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). berikut langkah uji data yaitu:

1. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Untuk uji hipotesis, jika distribusi data normal menggunakan uji parametrik. Sedangkan jika distribusi data tidak normal menggunakan uji non parametrik.
2. Uji homogenitas varian: jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova terpenuhi.
3. Uji *one way* Anova: bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan secara keseluruhan.
4. *Post Hoc test*: bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji Anova. Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji *Tukey HSD* dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0.05$)
5. Uji Korelasi Pearson: bertujuan untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil Uji *Post Hoc Tukey HSD*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian efek pemberian suplementasi zat besi dengan dosis tinggi terhadap kondisi makroskopis lambung tikus putih *Rattus norvegicus* strain wistar bunting didapatkan dengan mengamati lambung tikus secara makroskopis. Hasil penelitian pada lambung tikus dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Skoring Hasil Ulkus Lambung Secara Makroskopis

Kelompok	N	Dosis	Rata-rata skor	Std. Deviasi
Kontrol	6	-	1	.000
Perlakuan 1	6	0,54mg	1	.000
Perlakuan 2	6	1,08mg	1,3	.516
Perlakuan 3	6	2,16mg	3,5	1.225

Dari tabel diatas tampak bahwa, kelompok kontrol tikus bunting yang tidak diberikan suplementasi zat besi menunjukkan skor rata-rata sejumlah 1, dengan begitu kondisi pada lambung tikus kelompok kontrol dalam keadaan normal. Pada kelompok perlakuan 1 (tikus bunting yang mendapatkan suplementasi zat besi 0,54mg/hari) memiliki rata-rata skor ulkus 1, kondisi lambung pada kelompok perlakuan 1 dalam keadaan normal. Pada kelompok perlakuan 2 (tikus bunting yang mendapatkan suplementasi zat besi 1,08mg/hari) memiliki rata-rata skor ulkus 1,3, meskipun terdapat lesi (perdarahan) pada 2 dari 6 sample namun nilai rata-rata kondisi lambung masih dalam keadaan normal. Pada kelompok perlakuan 3 (tikus bunting yang mendapatkan suplementasi zat besi 2,16mg/hari) memiliki rata-rata skor ulkus 3,5, hal ini dikarenakan pada

kelompok perlakuan 3 ditemukan adanya ulkus dengan jumlah 1-3 ulkus pada tiap lambung hewan coba. Gambaran makroskopis ulkus lambung dapat dilihat pada gambar 5.1.



Kelompok Kontrol

Kelompok Perlakuan 1



Kelompok Perlakuan 2

Kelompok Perlakuan 3



Kelompok Perlakuan 3

Keterangan:

→ : Ulkus

○ : Perforasi

Gambar 5.1 Gambaran Kondisi Makroskopik Lambung

Pada Kelompok Kontrol (lambung nampak normal), dan Kelompok Perlakuan 1 (lambung nampak normal), 2 (terdapat 1 buah ulkus) dan 3 (Terdapat 2 buah ulkus dan terjadi perforasi).

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan SPSS for windows versi 23.0 dengan uji one way Anova dan korelasi Pearson. Sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan ANOVA, data yang diperoleh untuk setiap kelompok dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (uji *levene*). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji Homogeneity of Variance

Test of Homogeneity of Variances			
Skor			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.001	3	20	.413

Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari levene test memiliki nilai signifikansi lebih besar dari alpha 0,05 untuk semua tikus, oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

Selain uji homogenitas juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk*. Uji normalitas data dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skor	.144	24	.200*	.950	24	.267

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan *output Test of Normality*, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,267. Dikarenakan pada tes tersebut menunjukkan nilai signifikansi (p) $>0,05$ untuk semua tikus pengamatan, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data tersebut memiliki pendistribusian yang tersebar dengan normal. Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan karena kedua syarat yaitu uji homogenitas dan uji normalitas sudah terpenuhi.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang berarti pada masing-masing kelompok, juga untuk menguji apakah terdapat perbedaan yang berarti antara kelompok perlakuan satu dengan perlakuan yang lain, maka dilakukan analisis dengan menggunakan ANOVA, hasil uji dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Uji ANOVA

Skor					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.125	3	8.708	19.717	.000
Within Groups	8.833	20	.442		
Total	34.958	23			

Berdasarkan pada hasil analisis yang dilakukan dengan menggunakan analisis ANOVA pada tabel 5.4 didapatkan hasil uji *one way anova* adalah 0,000, berarti perbedaan jumlah lesi (perdarahan) lambung pada setiap kelompok bermakna.

Untuk mengetahui lebih lanjut mengenai perbedaan masing-masing kelompok tersebut dapat dilakukan analisa *Post Hoc Tests*, adanya perbedaan nilai antara kelompok dapat diketahui dengan melihat nilai p . hasil analisa *Post Hoc Tests* dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Analisa Post Hoc Tests

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Sig.
Kontrol	Perlakuan 1	.00	1.000
	Perlakuan 2	-.33	.821
	Perlakuan 3	-2.50*	.000
Perlakuan 1	Kontrol	.00	1.000
	Perlakuan 2	-.33	.821
	Perlakuan 3	-2.50*	.000
Perlakuan 2	Kontrol	.33	.821
	Perlakuan 1	.33	.821
	Perlakuan 3	-2.17*	.000
Perlakuan 3	Kontrol	2.50*	.000
	Perlakuan 1	2.50*	.000
	Perlakuan 2	2.17*	.000

Berdasarkan pada tabel 5.5 didapatkan hasil nilai perbedaan yang dibandingkan antara masing-masing kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Untuk mengetahui hubungan antara dosis suplementasi zat besi dengan skor ulkus peptikum lambung tikus maka digunakan uji *pearson*, diperoleh nilai $p=0,000$ yang menunjukkan korelasi antara suplementasi zat besi dosis tinggi dengan skor ulkus peptikum lambung bermakna ($p<0,05$). Hasil uji korelasi *Pearson* dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi Pearson

Correlations			
		Dosis	Skor
Dosis	Pearson Correlation	1	.799**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
Skor	Pearson Correlation	.799**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level

Selanjutnya dengan menggunakan uji regresi diketahui jumlah peningkatan dosis yang berpengaruh terhadap munculnya lesi ataupun ulkus peptikum lambung. Hasil yang diperoleh adalah sebesar 63,9% peningkatan dosis agar dapat menimbulkan lesi (perdarahan) ataupun ulkus peptikum pada lambung. Hasil uji regresi dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.799 ^a	.639	.623	.757

a. Predictors: (Constant), Dosis

Seperti yang terlihat nilai pada kolom R (korelasi) adalah 0,799 artinya pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) terhadap timbulnya ulkus lambung adalah 79,9% ($0,799 \times 100\%$). Namun nilai tersebut bisa dikatakan “terkontaminasi” oleh faktor eksternal, sehingga SPSS memberikan alternative nilai R Square sebagai perbandingan akurasi pengaruhnya yaitu sebesar 0,639 yang artinya 63,9%. Untuk lebih akuratnya prediksi pengaruh kita juga dapat berpatokan pada nilai Adjusted R Square yaitu nilai R Square tadi yang sudah lebih disesuaikan dan lazimnya ini yang paling akurat. Terlihat bahwa nilai

Adjusted R Square-nya sebesar 0,623 atau 62,3% pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen. Kolom selanjutnya pada tabel Model Summary memperlihatkan tingkat keakuratan model regresi dapat dilihat pada kolom Standard Error of The Estimate, disitu tertera angka 0,757. Nilai ini semakin mendekati angka 0 (nol) semakin akurat, dengan angka sebesar itu maka dapat dikatakan model yang terbentuk akurat sebesar 75,7%.

BAB 6

PEMBAHASAN

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini ada *true experimental* dengan rancangan penelitian *posttest only controls group design*. Menggunakan suplementasi zat besi yang diberikan kepada hewan coba berupa tikus wistar (*Rattus norvegicus strain wistar*) dengan tujuan untuk melihat efek samping yang dapat timbul pada lambung tikus berupa ulkus peptikum. Pada penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok pertama sebagai kelompok kontrol yang tidak diberikan suplemen besi dan 3 kelompok lainnya adalah kelompok yang diberikan suplementasi zat besi. Jumlah dosis yang diberikan setiap harinya pada setiap kelompok adalah berbeda, pada tikus perlakuan 1 (P1) diberikan suplementasi zat besi sejumlah 0,54 mg/hari, tikus perlakuan 2 (P2) diberikan suplementasi zat besi sejumlah 1,08 mg/hari, dan tikus perlakuan 3 (P3) akan diberikan suplementasi zat besi sejumlah 2,16 mg/hari. Dosis suplementasi zat besi adalah variabel bebas dalam penelitian ini sedangkan kondisi makroskopis lambung berupa ulkus lambung adalah variabel tergantung. Suplementasi zat besi diberikan secara peroral.

Suplemen zat besi atau biasa disebut dengan tablet tambah darah merupakan suplemen yang berfungsi sebagai tambahan mineral yang dibutuhkan untuk membentuk sel darah merah dalam tubuh (Soebroto, 2009). Dengan dosis yang sesuai anjuran KEMENKES, suplementasi zat besi ini dapat membantu ibu hamil mencegah terjadinya anemia. Namun suplementasi zat besi ini juga memberikan efek samping pada saluran gastrointestinal kepada konsumennya (Susiloningtyas, 2018).

Konsumsi suplemen zat besi dengan dosis yang tinggi menjadikan plasenta pada ibu hamil memiliki konsentrasi oksigen yang berlebihan dan melimpahnya massa dari mitokondria, sehingga spesies oksigen reaktif (ROS) diproduksi. ROS yang merupakan radikal bebas cenderung bereaksi dengan jaringan yang menimbulkan reaksi berantai pada sel berujung pada kerusakan jaringan. Selain itu radikal bebas yang berlebihan dalam sel dapat menurunkan konsentrasi antioksidan, penurunan pada perlindungan mukosa lambung dan peningkatan peroksidasi lipid, hal ini dapat menginduksi terjadinya ulkus peptikum lambung (Rahardjani & Budi, 2010). Efek samping lain yang dapat terjadi yaitu timbulnya sifat basa pada lambung. Sifat basa pada lambung ini dapat menimbulkan peningkatan kolonisasi *Helicobacter pylori* pada mukosa lambung yang berakibat pada rusaknya jaringan-jaringan pada lambung sehingga terjadi pembentukan ulkus peptikum lambung (Tetsufumi K et al., 2002).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi zat besi dosis tinggi dapat menyebabkan terjadinya ulkus peptikum lambung. Hasil uji one way anova adalah 0,000, berarti jumlah Ulkus peptikum lambung pada setiap kelompok berbeda. Hasil *post hoc tests* juga menunjukkan adanya perbedaan skor keparahan Ulkus peptikum lambung yang signifikan pada setiap kelompok. Hal ini disebabkan oleh perbedaan dosis yang diberikan pada setiap kelompok percobaannya. Pada kelompok kontrol kondisi makroskopis lambung menunjukkan gambaran makroskopis yang normal, tidak terlihat adanya Ulkus peptikum maupun perforasi pada lambung. Hal yang sama ditunjukkan pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis yang sudah dikonversi menjadi dosis tikus sejumlah 0,54 mg/hari, yang mana dosis ini merupakan dosis yang lebih rendah dari dosis suplementasi zat besi untuk ibu hamil yang disarankan oleh

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Perbedaan mulai terlihat pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis pemberian yang ditingkatkan dua kali lipat menjadi 1,08 mg/hari atau sesuai dengan dosis anjuran yang seharusnya diberikan pada ibu hamil dan kelompok perlakuan 3 dengan dosis pemberian yang ditingkatkan menjadi 2,16 mg/hari.

Hasil *post hoc tests* menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 tidak memiliki perbedaan sama sekali karena memiliki p-value $>0,05$. Hasil yang ditunjukkan antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan p-value $>0,05$. Hasil yang signifikan ditunjukkan pada perbandingan antara kelompok perlakuan 1 dan 2 terhadap perlakuan 3 dengan p-value $<0,05$. Pada uji korelasi diperoleh nilai $p = 0,000$ yang menunjukkan korelasi antara dosis suplementasi zat besi dengan skor ulkus lambung bermakna ($p < 0,05$) serta nilai R (koefisien korelasi) sebesar 0,799. Nilai korelasi ini menunjukkan bahwa hubungan antara dosis dan skor Ulkus peptikum lambung termasuk kategori kuat karena berada pada selang 0,6 – 0,8. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan semakin besar pula kejadian Ulkus peptikum lambung, sesuai dengan teori yang ada bahwa pemberian suplementasi besi dalam jumlah yang tinggi dapat meningkatkan radikal bebas dalam sel, meningkatkan sifat basa pada lambung yang berimbas pada peningkatan kolonisasi *Helicobacter pylori* dan memicu terjadinya ulkus peptikum lambung (Rahardjani & Budi, 2010 dan Tetsufumi K et al., 2002).

Pada hasil uji regresi ditemukan nilai pada kolom R Square (korelasi) adalah 0,639 artinya pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) terhadap timbulnya ulkus lambung adalah 63,9% ($0,639 \times 100\%$).

Penelitian ini masih memiliki beberapa kekurangan, yaitu belum menguji jumlah kolonisasi *Helicobacter pylori* yang dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya Ulkus peptikum lambung. Kekurangan lainnya pada penelitian ini adalah jumlah dosis pemberian suplemen besi kurang presisi pada saat disondekan pada hewan coba sehingga dapat menimbulkan bias pada hasilnya. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga dapat diketahui dosis pasti yang dapat bekerja optimal tanpa menimbulkan terjadinya efek samping pada ibu hamil.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Suplemen zat besi dengan dosis tinggi dapat menyebabkan timbulnya ulkus peptikum pada lambung.
- 2) Ulkus lambung mulai timbul pada dosis perlakuan 2 (P2) yaitu sebesar 1,08mg/200gBB.

7.2 Saran

- 1) Perlu dilakukan pemeriksaan konsentrasi *Helicobacter pylori* pada lambung yang dipaparkan suplementasi zat besi
- 2) Perlu dilakukan pemeriksaan mikroskopis pada lambung
- 3) Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis yang lebih tinggi untuk mengetahui dosis letal suplementasi zat besi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulmuthalib. 2009. *Kelainan Hematologik*. Dalam: Saifuddin, A. B., Rachimhadhi, T., Wiknjosastro, G.H., penyunting. Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo ---Ed. 4, Cet. 2 ---Jakarta: PT Bina Pustaka.
- Adiyati, P.N. 2011. *Ragam Jenis Ektoparasit pada Hewan Coba Tikus Putih (Rattusnorvegicus) Galur Sprague Dawley*. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Ahmed EB, Ali EA, Mohamed EH, Saleh EA, Elbaset EK, Mahmmed EM, Elaal AS, Elsayed AM, Quora AF, Hashem ZM, Fouad MM, Awaad HA, Hussein SM, & Ibrahim BA. 2015. *Assessment of iron and calcium supplements compliance among pregnant women attending antenatal care unit of Al Sabah Banat primary health care unit in Ismailia, Egypt*. J Med Bio Sci Res. 1(3): 24-29.
- Ahmed et all. 2001. *Concomitant Supplemental Vitamin A Enhances the Response to Weekly Supplemental Iron and Folic Acid in Anemic Teenagers In Urban Bangladesh*. Am. J. Clin. Nutr; 74(1):108-115.
- Andrews, 2008. *Kesehatan Reproduksi*. Jakarta: JNPK-KR/POGI.
- Almatsier, S. 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama.
- Baker DEJ, Lindsey JR, dan Weisborth SH. 1980. *The Laboratory Rat*. London:Vol II. Research applications. Academic Press Inc.
- Chertow, B. 2004. *Advance in Diabetes for Millenium: vitamins and Oxidant stress in Diabetes and Its Complication*. Huntington: Marshall University.
- Cunningham, F.G., Leveno, K.J., Bloom, S. L., Hauth, J. C., Gilstrap, L. C., Wenstrom, K. D. 2007. *Hematological Disorders*. Dalam: *William's Obstetrics*. Edisi ke-22. New York: MacGraw-Hill Companies.
- Depkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Feradis, MP. 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Alfabeta.
- Gusdinar, T., Herowati, R., Kartasasmita, R.E., Adnyana, L.A. 2009. *Synthesis and Gastric Ulcer Protective Activity of Chlorinated Quercetin*. Indonesia: Journal of Pharmacy.

- Hafez ESE, Jainudeen MR, dan Rosnina Y. 2000. *Hormones Growth Factors and Reproduction*. Di dalam: *Reproduction in Farm Animals*. Ed ke-3. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Janssen MC, Swinkels. 2009. *Hereditary Haemochromatosis*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 23(2):171-83.
- Kemenkes RI. 2013. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 75*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kemenkes RI. 2013. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 97*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kemenkes RI. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 88*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Larson DS & Coyne DW. 2013. *Understanding and exploiting hepcidin as an indicator of anemia due to chronic kidney disease*. *Kidney Res Clin Pract*. Epub 2013 Jan 16.
- Laurence, D.R. & A.L., Bacharach. 1964. *Evaluation of drug activities: pharmacometrics*. London: 1thed. Academic Press.
- Leslie M. & Xiaolan C. 2004. *Oxidative Stress in the Placenta*. *Histochem Cell Biol* 122:369-382.
- Liochev, S.I. & Friedovich, I. 1997. *How does Superoxide Dismutase Protect Against Tumor Necrosis Factor: A Hypothesis Informed by Effect of Superoxide on "Free" iron*. *Free Radic. Biol. Med*. 34:668-671.
- Malole MBM & Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Myers, P. & Armitage D., 2004, *Rattus norvegicus*, *Animal Diversity Web*, http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus.html yang diakses pada tanggal 8 Agustus 2018.
- Noviawati, Eka. 2012. *Hubungan Antara Asupan Zat Besi dan Kejadian Anemia pada Mahasiswi PSPD Angkatan 2009-2011 UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Paccola, C.C. 2013. *The Rat Estrous Cycle Revisited: A Quantitative And Qualitative Analysis*. *Anim: Reprod* Vol.10 No.4
- Permenkes RI. *No 88 Tahun 2014 Tentang Standar Tablet Tambah Darah Bagi Wanita Usia Subur Dan Ibu Hamil*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

- Powers, S.K. & Jackson, M.J. 2008. *Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production*. *Physiol Rev* 88:1243-76.
- Prawirohardjo. 2009. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta: Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Price, S. A. dan Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6, Volume 1. Jakarta: EGC.
- Rahardjani & Budi K. 2010. *Hubungan Antara Malondialdehida (MDA) dengan Hasil Luaran Sepsis Neonatorum*. *Jurnal Sari Pediatri* 12 (2): 82-87.
- Sarah McCrea., Nicola Bates. 1999. *Acute Iron Overdose: Clinical Features and Management. Emergency Nurse (through 2013)*. Health & Medical Collection pg. 18.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. Mosby, Inc. United States of America, 43–45.
- Smith, J.B, & Soesanto, Mangkowidjojo. 1987. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. Australia: International Development Program of Australia Universities and Colleges.
- Soebroto, I. 2009. *Cara mudah mengatasi problem Anemia*. Yogyakarta: Bangkit
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati. 2009. *Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid II edisi V. Anemia defisiensi besi 1128-37*. Jakarta: Internal publishing pusat penerbitan ilmu penyakit dalam.
- Sukrat & Sirichotiyakul. 2006. *The prevalence and causes of anemia during pregnancy in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital*. Thailand: J. Med. Assoc.
- Sullivan J. 2004. *Your Body How It Works: Digestion and Nutrition*. Philadelphia: Chelsea House.
- Supranto J. 2000. *Statistik (Teori dan Aplikasi), Edisi keenam*. Jakarta: Erlangga.
- Susiloningtyas, Is. 2018. *Pemberian Zat Besi (Fe) dalam Kehamilan*. Semarang: Universitas Islam Sultan Agung.
- Tetsufumi K., Yukio S., Kiyoshi S., Keigo T., Isamu K., Yoko O., Tomoko M., Mitsuo K., Masayuki I. 2002. *Contribution of Ferrous Iron to Maintenance of the Gastric Colonization of Helicobacter pylori in miniature pigs*. Tokyo, Japan: Biological Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Shinagawaku, Microbiol.

Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Penerbit Angkasa.

Turner, C Donnel & Joseph T Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum*. Penerjemah: Harsojo. Surabay: Penerbit Ailangga University Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Form Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 285 / EC / KEPK – S1 – KB / 11 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Peningkatan Kadar Glukosa Darah, Kondisi Makroskopis Lambung, Keadaan Plasenta, Kondisi Sel Beta Pankreas, Gambaran Sel Epitel Lambung, dan Gangguan Pertumbuhan pada Bayi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting.

PENELITI : Indah Nur Afifah
Zalfaa Velia Aqqilah
Safna Wahyuni
Dyah Aulia Perwitasari
Rachma Ayu Difa Pratiwi
Alfin Septia Putri Aldi

UNIT / LEMBAGA : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,
Ketua,

23 NOV 2018

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2 Hasil penelitian

No	Kelompok	Kode Tikus	Kondisi Lambung	Skor	Total	Rata-rata
1	KONTROL	14	Lambung Normal	1	6	1
2		45	Lambung Normal	1		
3		5	Lambung Normal	1		
4		9	Lambung Normal	1		
5		4	Lambung Normal	1		
6		33	Lambung Normal	1		
7	PERLAKUAN 1	32	Lambung Normal	1	6	1
8		15	Lambung Normal	1		
9		6	Lambung Normal	1		
10		20	Lambung Normal	1		
11		43	Lambung Normal	1		
12		36	Lambung Normal	1		
13	PERLAKUAN 2	24	Lambung Normal	1	8	1,3
14		26	Lambung Normal	1		
15		11	Lambung Normal	1		
16		40	Bintik Berdarah	2		
17		8	Bintik Berdarah	2		
18		23	Lambung Normal	1		
19	PERLAKUAN 3	28	1 ulkus	3	21	3,5
20		41	1 ulkus	3		
21		46	2 ulkus	3		
22		35	1 ulkus, 1 perforasi	6		
23		1	1 ulkus	3		
24		30	3 ulkus	3		

Lampiran 3 Analisis Data

1. Uji homogeneity of variance

Test of Homogeneity of Variances

Skor

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.001	3	20	.413

2. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skor	.144	24	.200*	.950	24	.267

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

Skor

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	6	1.00	.000	.000	1.00	1.00	1	1
P1	6	1.00	.000	.000	1.00	1.00	1	1
P2	6	1.33	.516	.211	.79	1.88	1	2
P3	6	3.50	1.225	.500	2.21	4.79	3	6
Total	24	1.71	1.233	.252	1.19	2.23	1	6

3. Uji ANOVA

ANOVA

Skor

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.125	3	8.708	19.717	.000
Within Groups	8.833	20	.442		
Total	34.958	23			

4. Analisa *Post Hoc Tests*

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Sig.
Kontrol	Perlakuan 1	.00	1.000
	Perlakuan 2	-.33	.821
	Perlakuan 3	-2.50*	.000
Perlakuan 1	Kontrol	.00	1.000
	Perlakuan 2	-.33	.821
	Perlakuan 3	-2.50*	.000
Perlakuan 2	Kontrol	.33	.821
	Perlakuan 1	.33	.821
	Perlakuan 3	-2.17*	.000
Perlakuan 3	Kontrol	2.50*	.000
	Perlakuan 1	2.50*	.000
	Perlakuan 2	2.17*	.000

5. Uji Korelasi *Pearson*

Correlations

		Dosis	Skor
Dosis	Pearson Correlation	1	.799**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
Skor	Pearson Correlation	.799**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level

6. Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.799 ^a	.639	.623	.757

a. Predictors: (Constant), Dosis

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian



Gambar 1 – Penimbangan pakan hewan coba



Gambar 2 – Penimbangan dosis serbuk Fe



Gambar 3 – Pencampuran serbuk Fe dengan aquades



Gambar 4 – Sediaan Fe siap pakai



Gambar 5 – Proses pengawinan hewan coba



Gambar 6 – Palpasi abdominalis untuk mendeteksi kehamilan



Gambar 7 – Proses Penyondean sediaan suplementasi zat besi pada hewan coba



Gambar 8 – Proses dislokasi servikalis



Gambar 9 – Proses pembedahan hewan coba



Gambar 10 – Pengambilan organ lambung untuk diteliti



Gambar 11 – Organ lambung yang akan diteliti